Disco de Reagente do Painel Bioquímico Plus Piccolo®

Apenas para utilização em diagnóstico in vitro e profissional
Serviço de Apoio ao Cliente e de Assistência Técnica: 800-822-2947

Julho de 2011
PN: 400-7182 Rev: C

1. Aplicação

O Disco de Reagente do Painel Bioquímico Plus Piccolo®, utilizado com o Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress™, destina-se a ser utilizado para a determinação quantitativa *in vitro* de alanina aminotransferase (ALT), albumina, fosfatase alcalina (ALP), amilase, aspartato aminotransferase (AST), proteína c reactiva (CRP), creatinina, gama-glutamiltransferase (GGT), glicose, proteína total, azoto ureico no sangue (BUN) e ácido úrico em sangue total heparinizado, plasma heparinizado ou soro em laboratórios clínicos ou locais de prestação de cuidados. O método CRP da Abaxis não se destina à medição de CRP de elevada sensibilidade.

2. Resumo e explicação dos testes

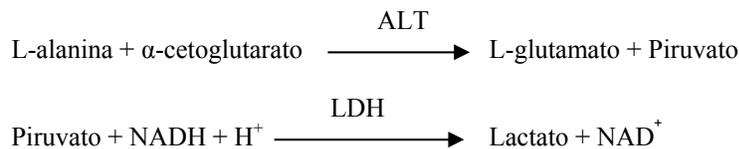
O Disco de Reagente do Painel Bioquímico Plus Piccolo e o Analisador Químico Piccolo xpress incluem um sistema de diagnóstico *in vitro* que ajuda o médico no diagnóstico das seguintes patologias:

Alanina aminotransferase (ALT):	Doenças hepáticas, incluindo hepatite viral e cirrose.
Albumina:	Doenças hepáticas e renais.
Fosfatase alcalina (ALP):	Doenças hepáticas, ósseas, da paratiróide e intestinais.
Amilase:	Pancreatite.
Aspartato aminotransferase (AST):	Doenças hepáticas, incluindo hepatite e icterícia viral, choque.
Proteína C reactiva (CRP):	Infecção, lesões em tecidos e distúrbios inflamatórios.
Cálcio:	Doenças da paratiróide, doenças ósseas e doenças renais crónicas; tetania.
Creatinina:	Doença renal e monitorização de diálise renal.
Gama-glutamiltransferase (GGT):	Doenças hepáticas, incluindo cirrose alcoólica e tumores hepáticos primários e secundários.
Glicose:	Distúrbios do metabolismo dos hidratos de carbono, incluindo diabetes mellitus e hipoglicemia em jovens e adultos.
Proteína total:	Doenças hepáticas, renais, da medula óssea; distúrbios metabólicos e nutricionais.
Azoto ureico no sangue (BUN):	Doenças renais e metabólicas.
Ácido úrico:	Distúrbios renais e metabólicos, incluindo insuficiência renal e gota.

Tal como acontece com qualquer procedimento de teste de diagnóstico, todos os outros procedimentos de teste, incluindo o estado clínico do doente, devem ser considerados antes do diagnóstico final.

3. Princípio do procedimento

Alanina aminotransferase (ALT)
A alanina aminotransferase (ALT) tem sido medida segundo três métodos. Dois destes métodos – a técnica colorimétrica de acoplamento de dinitrofenilhidrazina[1,2] e o ensaio enzimático fluorescente – raramente são utilizados.[3] A técnica mais comum para determinar as concentrações de ALT no soro consiste no método enzimático baseado na obra de Wróblewski e LaDue.[4] Foi proposto um procedimento de Wróblewski e LaDue modificado como o procedimento recomendado pela Federação Internacional de Química Clínica (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC).[5]

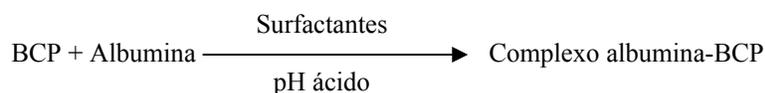
O método desenvolvido para utilização nos Analisadores Piccolo é uma modificação do procedimento recomendado pela IFCC. Nesta reacção, a ALT catalisa a transferência de um grupo amino de L-alanina para α-cetoglutarato para formar L-glutamato e piruvato. A lactato desidrogenase catalisa a conversão de piruvato em lactato. Concomitantemente, o NADH é oxidado em NAD^+, conforme ilustrado no seguinte esquema de reacção.

$$\text{L-alanina} + \alpha\text{-cetoglutarato} \xrightarrow{\text{ALT}} \text{L-glutamato} + \text{Piruvato}$$

$$\text{Piruvato} + \text{NADH} + H^{+} \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Lactato} + NAD^{+}$$

A taxa de variação da diferença de absorvância entre 340 nm e 405 nm deve-se à conversão de NADH em NAD^{+} e é directamente proporcional à quantidade de ALT presente na amostra.

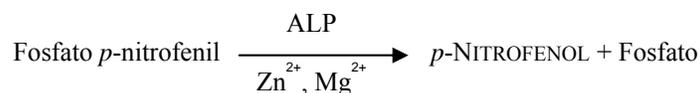
Albumina (ALB)
Os métodos iniciais utilizados para medir a albumina incluem técnicas de fraccionamento[6,7,8] e o teor de triptofano das globulinas.[9,10] Estes métodos são de realização insustentável e não possuem uma especificidade elevada. Duas técnicas imunoquímicas são consideradas como métodos de referência, mas são dispendiosas e morosas.[11] As técnicas de ligação por corante são os métodos mais frequentemente utilizados para medir a albumina. O verde de bromocresol (BCG) é o método de ligação por corante mais frequentemente utilizado, mas pode sobrestimar a concentração de albumina, especialmente no limite inferior do intervalo normal.[12] O púrpura de bromocresol (BCP) é o corante mais específico utilizado.[13,14]

Quando ligado à albumina, o púrpura de bromocresol (BCP) muda de cor de amarelo para azul. A absorvância máxima varia com a mudança de cor.

$$\text{BCP} + \text{Albumina} \xrightarrow[\text{pH ácido}]{\text{Surfactantes}} \text{Complexo albumina-BCP}$$

A albumina ligada é proporcional à concentração de albumina na amostra. Trata-se de uma reacção de ponto final que é medida como absorvância a 600 nm.

Fosfatase alcalina (ALP)
As técnicas de medição da fosfatase alcalina foram inicialmente desenvolvidas há mais de 60 anos. Vários destes métodos espectrofotométricos de ponto final ou de dois pontos[15,16] são actualmente considerados obsoletos ou pouco práticos. A utilização de fosfato *p*-nitrofenil (*p*-NPP) aumentou a velocidade da reacção.[17,18] A fiabilidade desta técnica foi significativamente melhorada com a utilização de um tampão de iões metálicos para manter a concentração de iões de magnésio e zinco na reacção.[19] O método de referência da Associação Americana de Química Clínica (American Association for Clinical Chemistry, AACC)[20] utiliza o *p*-NPP como substrato e um tampão de iões metálicos.

O procedimento Piccolo consiste numa modificação dos métodos da AACC e da IFCC[21]. A fosfatase alcalina hidrolisa o *p*-NPP num tampão de iões metálicos e forma *p*-nitrofenol e fosfato.

$$\text{Fosfato } p\text{-nitrofenil} \xrightarrow[Zn^{2+},\ Mg^{2+}]{\text{ALP}} p\text{-NITROFENOL} + \text{Fosfato}$$

A quantidade de ALP na amostra é proporcional à taxa de aumento da diferença de absorvância entre 405 nm e 500 nm.

Amilase (AMY)
Foram desenvolvidos cerca de 200 testes diferentes para medir a amilase. A maioria dos procedimentos utiliza uma solução de polissacarídeos tamponada, mas emprega técnicas de detecção diferentes. Os métodos viscosimétricos não apresentam precisão e exactidão suficientes[22], enquanto os métodos turbidimétricos e iodométricos são difíceis de padronizar.[23,24] Os métodos frequentemente utilizados são o sacarogénico e o cromolítico. A técnica “clássica” de medição da amilase consiste num método sacarogénico[25], mas é difícil e morosa.[26] Recentemente, foram desenvolvidos métodos cromolíticos que utilizam *p*-nitrofenilglicosídeos como substratos.[27] Estes ensaios apresentam uma especificidade mais elevada para amilase pancreática do que para amilase salivar e são fáceis de monitorizar.[27]

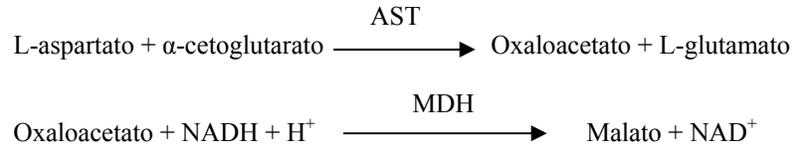
No método Piccolo, o substrato, 2-cloro-*p*-nitrofenil-α-D-maltotriósido (CNPG3), reage com a α-amilase na amostra do doente, libertando 2-cloro-*p*-nitrofenol (CNP). A libertação de CNP cria uma alteração da cor.

$$\text{CNPG3} \xrightarrow{\alpha\text{-amilase}} \text{CNP} + \text{D-maltotriósido}$$

A reacção é medida bicromaticamente a 405 nm e 500 nm. A alteração da absorvância devido à formação de CNP é directamente proporcional à actividade da α-amilase na amostra.

Aspartato aminotransferase (AST)
O teste de aspartato aminotransferase (AST) baseia-se no método da taxa de Karmen[28] conforme modificado por Bergmeyer.[29] O actual método de referência da Federação Internacional de Química Clínica (IFCC) utiliza a técnica de Karmen/Bergmeyer de acoplamento da malato desidrogenase (MDH) e dinucleótido de nicotinamida (NADH) reduzido na detecção de AST no soro.[29,30] A lactato desidrogenase (LDH) é adicionada à reacção para reduzir a interferência provocada pelo piruvato endógeno. A AST catalisa a reacção do L-aspartato e do α-cetoglutarato em oxaloacetato e L-glutamato. O oxaloacetato é convertido em malato e o NADH é oxidado em NAD^+ pelo catalisador MDH.

$$\text{L-aspartato} + \alpha\text{-cetoglutarato} \xrightarrow{\text{AST}} \text{Oxaloacetato} + \text{L-glutamato}$$

$$\text{Oxaloacetato} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{MDH}} \text{Malato} + NAD^+$$

A taxa de variação da absorvância a 340 nm/405 nm provocada pela conversão de NADH em NAD^+ é directamente proporcional à quantidade de AST presente na amostra.

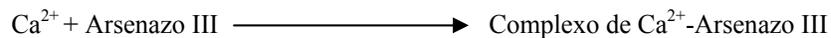
Proteína C reactiva (CRP)
Os ensaios originais para a quantificação de CRP destinavam-se principalmente à investigação e baseavam-se na metodologia ELISA.[31] Mais recentemente, foram utilizados métodos imunonefelométricos melhorados com látex.[32] Contudo, este procedimento requer um nefelómetro para medir a dispersão de luz. Actualmente, foram desenvolvidos vários ensaios imunoturbidimétricos e imunoluminométricos automatizados que podem ser processados em analisadores de química clínica convencionais.[33]

O método utilizado pela Abaxis é um ensaio turbidimétrico de aglutinação por látex melhorado. A amostra é misturada com uma suspensão de anticorpo monoclonal de CRP anti-humano de ratinho que é ligada ao látex. A CRP na amostra liga-se às partículas de látex-anticorpo e aglutina-se criando turvação A dispersão da luz da turvação é utilizada como medida de CRP. A turvação é medida como uma alteração na absorvância a 630 nm. Esta alteração de absorvância é directamente proporcional à CRP na amostra.

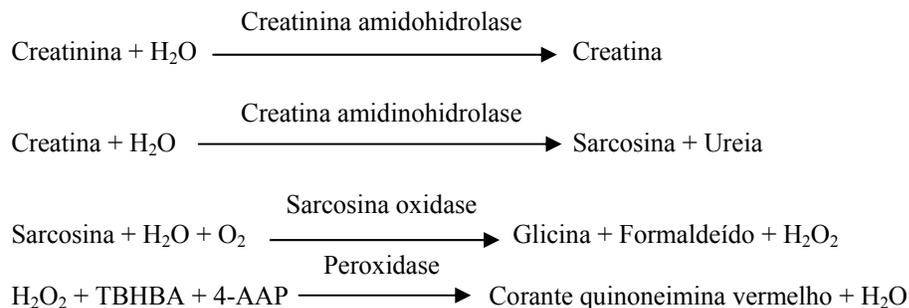
$$\text{Partículas de látex anti-CRP} + \text{CRP} \longrightarrow \text{Partículas de látex anti-CRP-CRP aglutinadas}$$

Cálcio (CA)
Os primeiros métodos utilizados para analisar o cálcio envolveram a precipitação do cálcio com um excesso de aniões.[34,35,36] Os métodos de precipitação são trabalhosos e frequentemente imprecisos. O método de referência para o cálcio é a espectroscopia por absorção atómica; contudo, este método não é adequado à utilização de rotina.[37] Os métodos espectrofotométricos que utilizam complexona de *o*-cresolftaleína ou arsenazo III como indicadores metalocrómicos são utilizados com maior frequência.[38,39,40] O arsenazo III tem uma grande afinidade relativamente ao cálcio e não depende da temperatura como a CPC.

O cálcio na amostra do doente liga-se ao arsenazo III para formar um complexo de cálcio-corante.

$$Ca^{2+} + \text{Arsenazo III} \longrightarrow \text{Complexo de } Ca^{2+}\text{-Arsenazo III}$$

A reacção de ponto final é monitorizada a 405 nm, 467 nm e 600 nm. A quantidade de cálcio total na amostra é proporcional à absorvância.

Creatinina (CRE)
O método de Jaffe, introduzido pela primeira vez em 1886, continua a ser um método frequentemente utilizado na determinação dos níveis de creatinina no sangue. O método de referência actual combina a utilização de terra de Fuller (floridina) com a técnica de Jaffe para aumentar a especificidade da reacção.[41,42] Foram desenvolvidos métodos enzimáticos mais específicos para creatinina do que as várias modificações da técnica de Jaffe.[43,44,45] Os métodos que utilizam a enzima creatinina amidohidrolase eliminam o problema da interferência de iões de amónio detectada nas técnicas que utilizam a creatinina iminohidrolase.[46]

Nas reacções enzimáticas acopladas, a creatinina amidohidrolase hidrolisa a creatinina em creatina. Uma segunda enzima, a creatina amidinohidrolase, catalisa a formação de sarcosina a partir da creatina. A oxidase de sarcosina provoca a oxidação de sarcosina em glicina, formaldeído e peróxido de hidrogénio (H_2O_2). Num acabamento de Trinder, a peroxidase catalisa a reacção entre peróxido de hidrogénio, 2,4,6-tribromo-3-ácido hidroxibenzóico (TBHBA) e 4-aminoantipirina (4-AAAP) num corante quinoneimina vermelho. São adicionados ferricianeto de sódio e ascorbato oxidase à mistura da reacção para minimizar a potencial interferência da bilirrubina e do ácido ascórbico, respectivamente.

São utilizadas duas cuvetes para determinar a concentração de creatinina na amostra. A creatina endógena é medida na cuvete de branco, que é subtraída da creatina endógena combinada e da creatina formada a partir das reacções enzimáticas na cuvete de teste. Quando a creatina endógena for eliminada dos cálculos, a concentração de creatinina será proporcional à intensidade da cor vermelha produzida. A reacção de ponto final é medida como a diferença de absorvância entre 550 nm e 600 nm.

TFGe (calculada)

A creatinina no soro é regularmente medida como indicador da função renal. Uma vez que a creatinina é influenciada pela idade, pelo sexo e pela raça, a doença renal crónica (DRC) pode não ser detectada utilizando apenas a creatinina no soro. Assim, o Programa Nacional de Educação para a Doença Renal (EUA) recomenda vivamente que os laboratórios comuniquem regularmente uma Taxa de Filtração Glomerular estimada (TFGe) quando se medir a creatinina no soro em doentes com idades iguais ou superiores a 18 anos. A comunicação regular da TFGe com todas as determinações de creatinina no soro permite que os laboratórios ajudem a identificar indivíduos com uma função renal reduzida e a facilitar a detecção de DRC. Valores de TFGe calculados <60 mL/min são geralmente associados a um aumento do risco de resultados adversos de DRC.[47,48,49]

O cálculo da TFGe é realizado pelo Piccolo utilizando a idade, o sexo e a raça do doente. O método Piccolo para a creatinina é rastreável ao método de referência de IDMS para creatinina, pelo que é possível utilizar a seguinte forma da equação MDRD para calcular a TFGe.

$$\text{TFG (mL/min/1,73 m}^2) = 175 \times (S_{cr})^{-1,154} \times (\text{Idade})^{-0,203} \times (0{,}742 \text{ para mulheres}) \times (1{,}212 \text{ para afro-americanos})$$

Gama-glutamiltransferase (GGT)

Os primeiros métodos quantitativos desenvolvidos para medir a gama-glutamiltransferase (GGT) envolviam uma segunda reacção para formar um corante azo que era combinado com um cromóforo.[50,51] A mudança para L-γ-glutamil-*p*-nitroanilida como substrato na reacção eliminou o passo de formação de corante.[52] Devido à fraca solubilidade e estabilidade da L-γ-glutamil-*p*-nitroanilida, este procedimento foi modificado de modo a utilizar o substrato L-γ-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida.[53] A Federação Internacional de Química Clínica (IFCC) recomendou que o método de GGT se baseie neste substrato, sendo a glicilglicina o outro substrato.[54]

A Abaxis modificou o método da IFCC para reagir a 37 °C. A adição de uma amostra contendo gama-glutamiltransferase aos substratos L-γ-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida e glicilglicina (gli-gli) provoca a formação de L-γ-glutamil-glicilglicina (glu-gli-gli) e 3-carboxi-4-nitroanilina.

$$\text{L-}\gamma\text{-glutamil-3-carboxi 4-nitroanilida + Gli-gli} \xrightarrow{\text{GGT}} \text{Glu-gli-gli + 3-carboxi-4-nitroanilina}$$

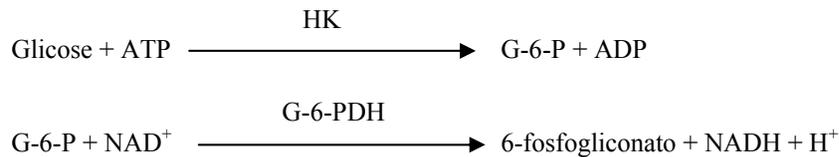
A absorvância desta reacção de cinética é medida a 405 nm. A produção de 3-carboxi-4-nitroanilina é directamente proporcional à actividade da GGT na amostra.

Glicose (GLU)

As primeiras medições da concentração de glicose foram realizadas utilizando métodos de redução de cobre (como o de Folin-Wu[55] e Somogyi-Nelson[56,57]). A falta de especificidade das técnicas de redução de cobre conduziu ao desenvolvimento de procedimentos quantitativos que utilizam as enzimas hexoquinase e glicose oxidase. O teste de glicose incorporado no Disco de Reagente do Painel Bioquímico Plus Piccolo consiste numa versão modificada do método de hexoquinase, que foi proposto como a base para o método de referência de glicose.[58]

A reacção da glicose com trifosfato de adenosina (ATP), catalisada por hexoquinase (HK), produz glicose-6-fosfato (G-6-P) e difosfato de adenosina (ADP). A glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PDH) catalisa a reacção de G-6-P em 6-fosfogliconato e a redução de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD^+) em NADH.

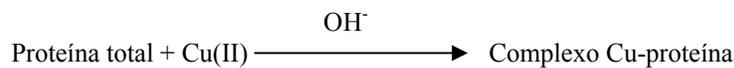
$$\text{Glicose} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{HK}} \text{G-6-P} + \text{ADP}$$

$$\text{G-6-P} + \text{NAD}^+ \xrightarrow{\text{G-6-PDH}} \text{6-fosfogliconato} + \text{NADH} + \text{H}^+$$

A absorvância é medida bicromaticamente a 340 nm e 850 nm. A produção de NADH é directamente proporcional à quantidade de glicose presente na amostra.

Proteína total (TP)

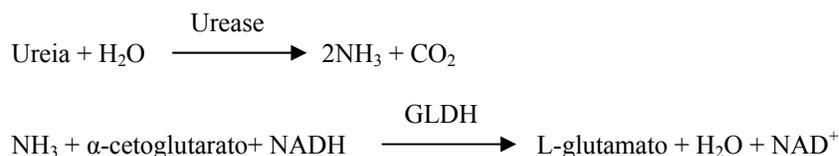
O método de proteína total é uma modificação da reacção do biureto, conhecida pela sua precisão, exactidão e especificidade.[59] Originalmente desenvolvida por Riegler[60] e modificada por Weichselbaum[61], Doumas, et al.[62] propuseram uma reacção do biureto como candidato a método de referência para a proteína total.

Na reacção do biureto, a solução proteica é tratada com iões cúpricos [Cu(II)] num meio alcalino forte. São adicionados tartarato de potássio e sódio e iodeto de potássio para evitar a precipitação de hidróxido de cobre e a auto-redução de cobre, respectivamente.[61] Os iões Cu(II) reagem com as ligações peptídicas entre os átomos de oxigénio no carbonilo e de nitrogénio no amido para formar um complexo Cu-proteína colorido.

$$\text{Proteína total} + \text{Cu(II)} \xrightarrow{\text{OH}^-} \text{Complexo Cu-proteína}$$

A quantidade de proteína total presente na amostra é directamente proporcional à absorvância do complexo Cu-proteína. O teste de proteína total é uma reacção de ponto final e a absorvância é medida como a diferença de absorvância entre 550 nm e 850 nm.

Azoto ureico no sangue (BUN)

A ureia pode ser medida directa e indirectamente. A reacção da diacetilmonoxima, o único método directo para medir a ureia, é frequentemente utilizada, embora empregue reagentes perigosos.[63] Os métodos indirectos medem a amónia criada a partir da ureia; a utilização da enzima urease aumentou a especificidade destes testes.[64] A A amónia é quantificada por uma variedade de métodos, incluindo a nesslerização (titulação de ácido), a técnica de Berthelot [65,66] e reacções enzimáticas acopladas.[67,68] No entanto, os procedimentos de Berthelot catalisados são inconstantes para a medição de amónia.[69] As reacções enzimáticas acopladas são rápidas, apresentam uma elevada especificidade para a amónia e são frequentemente utilizadas. Uma destas reacções foi proposta como candidato a método de referência.[70]

Na reacção enzimática acoplada, a urease hidrolisa a ureia em amónia e dióxido de carbono. Ao combinar amónia com α-cetoglutarato e nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) reduzido, a enzima glutamato desidrogenase (GLDH) oxida NADH em NAD^+.

$$\text{Ureia} + H_2O \xrightarrow{\text{Urease}} 2NH_3 + CO_2$$

$$NH_3 + \alpha\text{-cetoglutarato} + \text{NADH} \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{L-glutamato} + H_2O + NAD^+$$

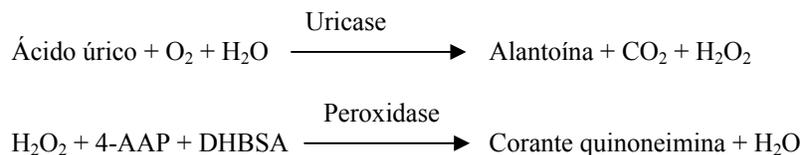
A taxa de variação da diferença de absorvância entre 340 nm e 405 nm deve-se à conversão de NADH em NAD^+ e é directamente proporcional à quantidade de ureia presente na amostra.

Ácido úrico (UA)

Os primeiros métodos quantitativos para determinar as concentrações de ácido úrico no sangue basearam-se na redução de ácido fosfotúngstico em azul de tungsténio em soluções alcalinas de ácido úrico.[71,72] Foi desenvolvido um teste de ácido úrico, com maior especificidade, utilizando a enzima uricase específica para o ácido úrico. Desde então, este método passou a ser a técnica química clínica padrão para o ácido úrico.[73]

O método de uricase é acoplado através de um acabamento de peroxidase de Trinder.[74] Neste método, a uricase catalisa a oxidação de ácido úrico em alantoína e peróxido de hidrogénio. A peroxidase catalisa a reacção entre o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), 4-aminoantipirina (4-AAP) e o ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibenzenosulfónico (DHBSA) num corante quinoneimina vermelho. São adicionados ferricianeto de sódio e ascorbato oxidase à mistura da reacção para minimizar a potencial interferência da bilirrubina e do ácido ascórbico.

$$\text{Ácido úrico} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Uricase}} \text{Alantoína} + CO_2 + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{4-AAP} + \text{DHBSA} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{Corante quinoneimina} + H_2O$$

A quantidade de ácido úrico na amostra é directamente proporcional à absorvância do corante quinoneimina. A absorvância final desta reacção de ponto final é medida bicromaticamente a 500 nm e 600 nm.

4. Princípio de funcionamento

Consulte no Manual do Operador do Analisador Químico Piccolo xpress os princípios e limitações do procedimento.

5. Descrição dos reagentes

Reagentes

Cada Disco de Reagente do Painel Bioquímico Plus Piccolo contém esferas de reagente secas específicas do teste (descritas abaixo). É incluído em cada disco um reagente de branco de amostra seca (composto por tampão, surfactantes, excipientes e conservantes) para utilização no cálculo de concentrações de alanina aminotransferase (ALT), albumina (ALB), fosfatase alcalina (ALP), amilase (AMY), aspartato aminotransferase (AST), proteína c reactiva (CRP), cálcio (CA), gama-glutamiltransferase (GGT), glicose (GLU), proteína total (TP), azoto ureico no sangue (BUN) e ácido úrico (UA). É incluído no disco para cálculo das concentrações de creatinina (CRE) um branco de amostra dedicado. Cada disco contém ainda um diluente composto por surfactantes e conservantes.

Tabela 1: Reagentes

Componente	Quantidade/Disco
Adenosina-5'-trifosfato	12 μg
L-alanina	874 μg
4-aminoantipirina	27 μg
Cloridrato de 4-aminoantipirina	6 μg
CRP anti-humana (cabra)	0,3 μg
Látex revestido de CRP anti-humana (ratinho)	67 μg
Arsenazo III, sal sódico	3 μg
Ascorbato oxidase (Cucurbita spp.)	0,4 U
Ácido L-aspártico	426 μg
Púrpura de bromocresol	2 μg
2-cloro-4-nitrofenil-α-D-maltotriósido (CNPG3)	36 μg
Creatina amidinohidrolase (*Actinobacillus spp.*)	3 U
Creatinina amidohidrolase (*Pseudomonas spp.*)	1 U
Sulfato cúprico	210 μg
Ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibenzenosulfónico (DHBSA)	37 μg
Glicose-6-fosfato desidrogenase (leveduras)	0,05 U
Glutamato desidrogenase (fígado bovino)	0,01 U
Ácido L-glutâmico γ-(3-carboxi-4-nitroanilida), sal amoníaco	32 μg
Glicilglicina	317 μg
Hexoquinase (leveduras)	0,1 U
α-cetoglutarato, sal dissódico	37 μg
Ácido α-cetoglutárico	72 μg
Lactato desidrogenase (coração de galinha)	0,002 U
Lactato desidrogenase (Staphylococcus epidermidis)	0,1 U
Acetato de magnésio	7 μg
Cloreto de magnésio	5 μg
Malato desidrogenase (MDH) (coração de porco)	0,01 U
β-nicotinamida adenina dinucleótido (NAD)	20 μg

Componente	Quantidade/Disco
β-nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) reduzido	19 µg
Fosfato p-nitrofenil (p-NPP)	67 µg
Peroxidase (rábano silvestre)	0,9 U
Iodeto de potássio	28 µg
Sarcosina oxidase (microrganismo)	0,7 U
Ferricianeto de sódio	1 µg
Tartarato de potássio e sódio	343 µg
2,4,6-tribromo-3-ácido hidroxibenzóico (TBHBA)	188 µg
Urease (ervilha-sabre)	0,05 U
Uricase (microbiana)	0,04 U
Sulfato de zinco	3 µg
Tampões, surfactantes, excipientes e conservantes	

Advertências e precauções

- Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

- O recipiente de diluente no disco de reagente é automaticamente aberto ao fechar a gaveta do analisador. Não é possível reutilizar um disco com um recipiente de diluente aberto. Certifique-se de que a amostra ou o controlo foi colocada/o no disco antes de fechar a gaveta.

- Os discos de reagente usados contêm fluidos corporais humanos. Siga as boas práticas de segurança laboratorial quando manusear e eliminar discos usados.[75] Consulte no Manual do Operador do Analisador Químico Piccolo xpress as instruções de limpeza de derrames biologicamente perigosos.

- Os discos de reagente são de plástico e podem rachar ou partir-se se caírem. **Nunca** utilize um disco que tenha caído, uma vez que pode espalhar materiais biologicamente perigosos no interior do analisador.

- As esferas de reagente podem conter ácidos ou substâncias cáusticas. O operador não entra em contacto com as esferas de reagente se os procedimentos recomendados forem seguidos. Na eventualidade de manuseamento das esferas (por exemplo, durante a limpeza depois de um disco cair e se partir), evite a ingestão, o contacto com a pele ou a inalação das esferas de reagente.

Instruções para o manuseamento de reagentes

É possível utilizar os discos de reagente directamente a partir do frigorífico sem aquecer. Não permita que os discos selados em bolsas de alumínio permaneçam à temperatura ambiente durante mais de 48 horas antes da utilização. Abra a bolsa de alumínio selada, retire o disco e utilize de acordo com as instruções fornecidas no Manual do Operador do Analisador Químico Piccolo xpress. Um disco que não seja utilizado dentro de 20 minutos após a abertura da bolsa deverá ser eliminado.

Armazenamento

Armazene os discos de reagente nas respectivas bolsas seladas a 2–8 °C (36–46 °F). Não exponha os discos, abertos ou fechados, a luz solar directa ou a temperaturas superiores a 32 °C (90 °F). Pode utilizar os discos de reagente até ao prazo de validade incluído na embalagem. O prazo de validade também está codificado no código de barras impresso no anel de código de barras. Será apresentada uma mensagem de erro no visor do Analisador Químico Piccolo xpress se os reagentes estiverem fora do prazo.

Indicações de instabilidade/deterioração do disco de reagente

Uma bolsa rasgada ou que apresente qualquer tipo de danos pode permitir a entrada de humidade no disco não utilizado e afectar adversamente o desempenho do reagente. Não utilize um disco de uma bolsa danificada.

6. Instrumento

Consulte no Manual do Operador do Analisador Químico Piccolo xpress informações completas sobre a utilização do analisador.

7. Colheita e preparação das amostras

As técnicas de colheita das amostras são descritas na secção "Colheita de amostras" do Manual do Operador do Analisador Químico Piccolo xpress.

- O volume mínimo da amostra necessário é ~100 µL de sangue total heparinizado com lítio, plasma heparinizado com lítio, soro ou material de controlo. A câmara da amostra do disco de reagente pode conter até 120 µL de amostra.
- As amostras de sangue total obtidas por punção venosa devem apresentar-se homogéneas antes de serem transferidas para o disco de reagente. Inverta suavemente o tubo de colheita várias vezes imediatamente antes de transferir a amostra. Não agite o tubo de colheita; a agitação pode provocar hemólise.
- As amostras de sangue total devem ser obtidas apenas por punção venosa e não a partir de sangue capilar.
- As amostras de sangue total por punção venosa devem ser processadas no prazo de 60 minutos após a colheita.[76] As concentrações de **glicose** são afectadas pelo tempo decorrido desde a última refeição do doente e pelo tipo de amostra colhida. Para determinar os resultados de glicose com precisão, as amostras devem ser colhidas de um doente que tenha estado em jejum durante pelo menos 12 horas. A concentração de glicose diminui aproximadamente 5–12 mg/dL no espaço de 1 hora em amostras não centrifugadas armazenadas à temperatura ambiente.[77]
- Para as amostras de sangue total ou de plasma, utilize apenas tubos de colheita de amostras evacuados com heparina de lítio (tampa verde). Para as amostras de soro, utilize tubos de colheita de amostras evacuados sem aditivos (tampa vermelha) ou tubos para separação de soro (tampa vermelha/preta).
- A refrigeração de amostras de sangue total pode provocar alterações significativas nas concentrações de **aspartato aminotransferase**, **creatinina** e **glicose**.[78] A amostra pode ser separada em plasma ou soro e armazenada em tubos de amostra com tampa a 2–8 °C (36–46 °F) caso não seja possível processar a amostra no prazo de 60 minutos.
- Inicie o teste no prazo de 10 minutos após a transferência da amostra para o disco de reagente.

8. Procedimento

Materiais fornecidos

- Um Disco de Reagente do Painel Bioquímico Plus Piccolo, PN: 400-1035 (uma caixa de discos, PN 400-0035)

Materiais necessários mas não fornecidos

- Analisador Químico Piccolo xpress.
- As pipetas de transferência de amostras (volume fixo de aproximadamente 100 µL) e as pontas são fornecidas com cada Analisador Químico Piccolo xpress e podem ser encomendadas novamente junto da Abaxis.
- Reagentes de controlo disponíveis no mercado recomendados pela Abaxis (contacte a Assistência Técnica da Abaxis para obter mais informações sobre os materiais de controlo e os valores esperados).
- Temporizador.

Parâmetros de teste

O Analisador Químico Piccolo xpress funciona a temperaturas ambiente entre os 15 °C e os 32 °C (59–90 °F). O tempo de análise de cada Disco de Reagente do Painel Bioquímico Plus Piccolo é inferior a 14 minutos. O analisador mantém o disco de reagente à temperatura de 37 °C (98,6 °F) durante o intervalo de medição.

Procedimento de teste

Os procedimentos completos de colheita de amostras e funcionamento passo a passo são descritos em pormenor no Manual do Operador do Analisador Químico Piccolo xpress.

Calibração

O Analisador Químico Piccolo xpress é calibrado pelo fabricante antes do seu envio. O código de barras impresso no anel de código de barras indica ao analisador os dados de calibração específicos do disco. Consulte o Manual do Operador do Analisador Químico Piccolo xpress.

Controlo de qualidade

Consulte no Manual do Operador do Analisador Piccolo xpress uma descrição detalhada sobre o processamento, registo, interpretação e representação gráfica dos resultados de controlo.

9. Resultados

O Analisador Químico Piccolo xpress calcula e imprime automaticamente as concentrações de analito na amostra. Os detalhes dos cálculos de reacção de ponto final e cinética encontram-se no Manual do Operador do Analisador Químico Piccolo xpress. A interpretação dos resultados é descrita no Manual do Operador. Os resultados são impressos em fitas de resultados fornecidas pela Abaxis. As fitas de resultados têm um verso autocolante para facilitar a colocação nos ficheiros dos doentes.

10. Limitações do procedimento

As limitações gerais sobre o procedimento são descritas no Manual do Operador do Analisador Químico Piccolo xpress.

- O único anticoagulante **recomendado para utilização** com o Sistema de Analisador Químico Piccolo xpress é a **heparina de lítio**. Não utilize heparina de sódio. A Abaxis realizou estudos que demonstram que o EDTA, fluoreto, oxalato e qualquer anticoagulante que contenha iões de amónio interferem com pelo menos um dos químicos contidos no Disco de Reagente do Painel Bioquímico Plus Piccolo.

- As amostras com hematócritos com um excesso de volume de concentrado de eritrócitos de 62–65% (uma fracção de volume de 0,62–0,65) podem apresentar resultados inexactos. As amostras com um nível elevado de hematócritos podem ser incluídas nos relatórios como hemolisadas. Estas amostras podem ser centrifugadas de forma a obter plasma e reprocessadas num novo disco de reagente.

- A CRP é uma proteína de "fase aguda" e aumenta de forma não específica em resposta à inflamação. A variação intra-individual da proteína c reactiva é significativa (30 a 60%) e deverá ser tida em consideração durante a interpretação dos valores.[31] Podem ser necessárias medições em série para estimar a média real da proteína c reactiva em qualquer indivíduo específico.

- Os HAMA (anticorpos humanos anti-rato) até 115 ng/mL não interferem. As amostras de doentes que tenham recebido preparados de anticorpos monoclonais de ratinho para diagnóstico ou terapêutica podem conter HAMA.

- O factor reumatóide até uma concentração de 644 U/mL não interfere.

- Não se observou qualquer efeito de prozona de dose elevada neste ensaio com concentrações de CRP até 1.000 mg/L.

- **Qualquer resultado de um determinado teste que exceda o intervalo de ensaio deverá ser analisado através de outro método de teste aprovado ou enviado para um laboratório de referência. Não dilua a amostra e processe novamente no Analisador Químico Piccolo xpress.**

  Advertência: Testes extensivos com o Analisador Químico Piccolo xpress demonstraram que, em casos muito raros, a amostra distribuída no disco de reagente pode não fluir devidamente para a câmara da amostra. Devido ao fluxo não uniforme, é possível que seja analisada uma quantidade de amostra inadequada e vários resultados poderão encontrar-se fora dos intervalos de referência. A amostra pode ser reprocessada utilizando um novo disco de reagente.

Interferência

Foram testadas substâncias como interferentes com os analitos. Foram preparados pools de soro humano. A concentração a que cada substância potencialmente interferente foi testada baseou-se nos níveis de teste da directriz CLSI (anterior NCCLS) EP7-P[79](excepto CRP) e CLSI EP7-A[80] (CRP).

Efeitos de substâncias endógenas

- As substâncias interferentes fisiológicas (hemólise, icterícia e lipémia) provocam alterações nas concentrações apresentadas de alguns analitos. Os índices da amostra encontram-se impressos na parte inferior de cada fita de resultado para informar o operador dos níveis de substâncias interferentes presentes em cada amostra.

- O Analisador Químico Piccolo xpress suprime quaisquer resultados que sejam afectados por >10% de interferência resultante de hemólise, lipémia ou icterícia. A indicação "HEM", "LIP" ou "ICT", respectivamente, é impressa na fita de resultado em vez do resultado.

- Para o método de CRP, os níveis de substâncias endógenas que activam as supressões HEM, LIP ou ICT são de 750 mg/dL para hemoglobina, 750 mg/dL para lipémia e 35 mg/dL para bilirrubina.

- Para obter mais informações sobre os níveis máximos de substâncias endógenas, contacte a Assistência Técnica da Abaxis.

Efeitos de substâncias exógenas e terapêuticas

Foram seleccionadas substâncias exógenas e terapêuticas como potencialmente interferentes para os métodos de teste da Abaxis com base em recomendações de Young.[81] A interferência significativa define-se como um desvio no resultado superior a ±10% para uma amostra de intervalo normal. Os pools de soro humano foram suplementados com concentrações conhecidas dos fármacos ou químicos e posteriormente analisados. Consulte a Tabela 2 para obter uma lista de substâncias exógenas e terapêuticas avaliadas. **Consulte a TABELA 3 para obter uma lista de analitos nos quais foi observada interferência.**

Tabela 2: Substâncias exógenas e terapêuticas avaliadas

Substância potencialmente interferente	Concentração mais elevada testada[A] (mg/dL a menos que especificado de outro modo)
Acetaminofeno	100
Acetoacetato	102
Ácido acetilsalicílico	50
Ampicilina	30
Ácido ascórbico (excepto CRP)	20
Ácido ascórbico (CRP apenas)	3
Cafeína	10
Cloreto de cálcio (excepto CRP)	20
Cloreto de cálcio (CRP apenas)	NR
Cefalotina (Keflin)	400
Cloranfenicol	100
Cimetidina	16
L-dopa	5
Dopamina (excepto CRP)	19
Dopamina (CRP apenas)	13
Epinefrina	1
Eritromicina	10
Glutationa	30
Hidroclorotiazida	7,5
Ibuprofeno	50
Isoniazida	4
α-cetoglutarato (excepto CRP)	5
α-cetoglutarato (CRP apenas)	NR
Cetoprofeno	50
Lidocaína	1
Lactato (excepto CRP)	230
Lactato de lítio (CRP apenas)	84
Meticilina	100
Metotrexato	0,5
Metildopa (AST, GLU, TP e UA apenas)	0,5
Metildopa (todos os restantes)	NR
Metronidazol	5
Nafcilina	1
Nitrofurantoína	20
Oxacilina	1
Oxaloacetato	132
Penicilina G	100
Fenitoína (5,5-difenilhidantoína)	3
Prolina	4
Piruvato (excepto CRP)	44
Piruvato (CRP apenas)	NR
Rifampicina (AST, GLU, TP e UA apenas)	1,5
Rifampicina (todos os restantes)	0,5
Ácido salicílico (excepto CRP)	25
Ácido salicílico (CRP apenas)	50
Sulfasalazina (excepto CRP)	10
Sulfasalazina (CRP apenas)	NR
Sulfadiazina (excepto CRP)	NR
Sulfadiazina (CRP apenas)	150
Sulfanilamida	50
Teofilina	20

[A] NR = não realizado

Tabela 3: As substâncias seguintes apresentaram um desvio no resultado superior a ± >10% para uma amostra de intervalo normal.

	Concentração que produz interferência >10%	% de interferência[B] observada
Alanina aminotransferase (ALT)		
Ácido ascórbico	20	aum. 11%
Oxaloacetato	132	aum. 843%
Albumina (ALB)		
Acetoacetato	102	dim. 18%
Ampicilina	30	dim. 12%
Cafeína	10	dim. 14%
Cloreto de cálcio	20	dim. 17%
Cefalotina (Keflin)	400	aum. 13%
Ibuprofeno	50	aum. 28%
α-cetoglutarato	5	dim. 11%
Nitrofurantoína	20	dim. 13%
Prolina	4	aum. 12%
Sulfasalazina	10	dim. 14%
Sulfanilamida	50	dim. 12%
Teofilina	20	dim. 11%
Fosfatase alcalina (ALP)		
Teofilina	20	dim. 42%
Proteína c reactiva		
Glutationa	30	dim. 13%
Isoniazida	4	dim. 16%
L-dopa	5	dim. 28%
Oxaloacetato	132	dim. 57%
Creatinina (CRE)		
Ácido ascórbico	20	dim. 11%
Dopamina	19	dim. 80%
L-dopa	5	dim. 71%
Epinefrina	1	dim. 45%
Glutationa	30	dim. 13%
Glicose (GLU)		
Oxaloacetato	132	dim. 11%
Piruvato	44	dim. 13%
Ácido úrico		
Ácido ascórbico	20	dim. 13%
Epinefrina	1	dim. 14%
L-dopa	5	dim. 78%
Metildopa	0,5	dim. 12%
Rifampicina	1,5	dim. 14%
Ácido salicílico	25	dim. 20%

[B] dim.= diminuição na concentração do analito especificado; aum. = aumento na concentração do analito especificado

11. Valores esperados

Foram utilizadas amostras de um total de 193 adultos do sexo masculino e feminino, analisadas no Analisador Químico Piccolo xpress, para determinar os intervalos de referência para a ALT, albumina, ALP, amilase, cálcio, creatinina, glicose, proteína total e BUN. Foram utilizadas amostras de um total de 186 adultos do sexo masculino e feminino para determinar o intervalo de referência para a AST e ácido úrico. Foram utilizadas amostras de um total de 131 adultos do sexo masculino e feminino para determinar o intervalo de referência para a GGT. Os intervalos abaixo para estes analitos foram calculados com base no intervalo de referência de 95% estimado a partir dos valores combinados (globais) obtidos dos indivíduos de referência. Foram analisadas amostras de um total de 69 adultos do sexo masculino e feminino no Analisador Químico Piccolo xpress para a CRP. O intervalo de CRP baseou-se na transferibilidade comprovada dos intervalos de referência do instrumento Beckman.[82] Estes intervalos são fornecidos apenas como orientação. Recomenda-se que o seu departamento ou a sua instituição estabeleçam os intervalos normais para sua população de doentes específica.

Tabela 4: Intervalos de referência do Analisador Piccolo

Analito	Unidades comuns	Unidades SI
Alanina aminotransferase (ALT)	10–47 U/L	10–47 U/L
Albumina (ALB)	3,3–5,5 g/dL	33–55 g/L
Fosfatase alcalina (ALP)		
Mulher	42–141 U/L	42–141 U/L
Homem	53–128 U/L	53–128 U/L
Amilase (AMY)	14–97 U/L	14–97 U/L
Aspartato aminotransferase (AST)	11–38 U/L	11–38 U/L
Proteína c reactiva	<7,5 mg/L	<7,5 mg/L
Cálcio (CA)	8,0–10,3 mg/dL	2,00–2,58 mmol/L
Creatinina	0,6–1,2 mg/dL	53–106 µmol/L
Gama-glutamiltransferase (GGT)	5–65 U/L	5–65 U/L
Glicose	73–118 mg/dL	4,1–6,6 mmol/L
Proteína total (TP)	6,4–8,1 g/dL	64–81 g/L
Azoto ureico no sangue (BUN)	7–22 mg/dL	2,5–7,9 mmol/L
Ácido úrico (UA)		
Mulher	2,2–6,6 mg/dL	131–393 µmol/L
Homem	3,6–8,0 mg/dL	214–476 µmol/L

12. Características de desempenho

Linearidade

A química de cada analito é linear no intervalo dinâmico abaixo indicado quando o Analisador Químico Piccolo xpress é utilizado de acordo com o procedimento recomendado (consulte o Manual do Operador do Analisador Químico Piccolo xpress).

Tabela 5: Intervalos dinâmicos do Analisador Piccolo

Analito	Unidades comuns	Unidades SI
Alanina aminotransferase (ALT)	5–2000 U/L	5–2000 U/L
Albumina (ALB)	1–6,5 g/dL	10–65 g/L
Fosfatase alcalina (ALP)	5–2400 U/L	5–2400 U/L
Amilase (AMY)	5–4000 U/L	5–4000 U/L
Aspartato aminotransferase (AST)	5–2000 U/L	5–2000 U/L
Proteína c reactiva	5,0–200,0 mg/L	5,0–200,0 mg/L
Cálcio	4,0-16,0 mg/dL	1,0–4,0 mmol/L
Creatinina	0,2–20 mg/dL	18–1768 μmol/L
Gama-glutamiltransferase (GGT)	5–3000 U/L	5–3000 U/L
Glicose	10–700 mg/dL	0,6–38,9 mmol/L
Proteína total (TP)	2–14 g/dL	20–140 g/L
Azoto ureico no sangue (BUN)	2–180 mg/dL	0,7–64,3 mmol/L
Ácido úrico	1–15 mg/dL	100–900 μmol/L

Se a concentração de analitos se situar acima do intervalo de medição (intervalo dinâmico), mas for inferior ao intervalo do sistema, a fita impressa irá indicar um sinal “>” no limite superior e um asterisco depois do número, por exemplo, ALT >2000* U/L. Se for inferior ao intervalo dinâmico, será impresso um “<” com um asterisco, por exemplo, ALT <5* U/L. Para valores que se situem largamente fora do intervalo de medição (intervalo do sistema), será impresso “~~~” em vez de um resultado. Sempre que “~~~” for apresentado numa fita impressa, recolha uma nova amostra e reprocesse o teste. Se os resultados da segunda amostra forem novamente suprimidos, contacte o Serviço de Apoio ao Cliente da Abaxis.

Sensibilidade (limites de detecção)

O limite inferior de detecção do intervalo reportável (dinâmico) para cada analito é de: alanina aminotransferase 5 U/L; albumina 1 g/dL (10 g/L); fosfatase alcalina 5 U/L; amilase 5 U/L; aspartato aminotransferase 5 U/L; proteína c reactiva 5,0 mg/L; cálcio 4,0 mg/dL (1,0 mmol/L); creatinina 0,2 mg/dL (18 μmol/L); gama-glutamiltransferase 5 U/L; glicose 10 mg/dL (0,6 mmol/L); proteína total 2 g/dL (20 g/L); azoto ureico no sangue 2,0 mg/dL (0,7 mmol/L) e ácido úrico 1 mg/dL (100 μmol/L).

Precisão

Foram realizados estudos de precisão utilizando as directrizes CLSI EP5-T2[83] (excepto CRP) e EP5-A[84] com modificações baseadas na directriz CLSI EP18-A[85] para dispositivos de utilização unitária. Os resultados de precisão intra-ensaio e total foram determinados utilizando dois níveis de materiais de controlo comercialmente disponíveis. Os estudos utilizaram vários instrumentos. Os testes de ALT, AST, albumina, ALP, amilase, cálcio, creatinina, GGT, glicose, proteína total, BUN e ácido úrico foram realizados em dois locais com dois lotes de discos de reagente durante 20 dias. Os testes de proteína c reactiva foram realizados com um lote de discos de reagente durante cinco dias; soro 1, controlo 1 e controlo 2 foram realizados em dois locais; soro 2, soro 3, plasma 1 e plasma 2 foram realizados num local.

Os resultados dos estudos de precisão são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Precisão

Analito	Tamanho da amostra	Intra-ensaio	Total
Alanina aminotransferase (U/L)			
Controlo 1	N = 80		
Média		21	21
DP		2,76	2,79
%CV		13,4	13,5
Controlo 2	N = 80		
Média		52	52
DP		2,70	3,25
%CV		5,2	6,2

Tabela 6: Precisão (continuação)

Analito	Tamanho da amostra	Intra-ensaio	Total
Albumina (g/dL)			
Controlo 1	N = 80		
Média		5,6	5,6
DP		0,09	0,11
%CV		1,7	2,1
Controlo 2	N = 80		
Média		3,7	3,7
DP		0,07	0,11
%CV		2,0	2,9
Fosfatase alcalina (U/L)			
Controlo 1	N = 80		
Média		39	39
DP		1,81	2,29
%CV		4,6	5,8
Controlo 2	N = 80		
Média		281	281
DP		4,08	8,75
%CV		1,5	3,1
Amilase (U/L)			
Controlo 1	N = 80		
Média		46	46
DP		2,40	2,63
%CV		5,2	5,7
Controlo 2	N = 80		
Média		300	300
DP		11,15	11,50
%CV		3,7	3,8
Aspartato aminotransferase (U/L)			
Controlo 1	N = 80		
Média		47	47
DP		0,98	1,84
%CV		2,1	3,9
Controlo 2	N = 80		
Média		145	145
DP		1,83	4,62
%CV		1,3	3,2
Proteína c reactiva (mg/L)			
Soro 1	N = 80		
Média		8,3	8,3
DP		0,70	0,81
%CV		8,4	9,8
Soro 2	N = 40		
Média		8,1	8,1
DP		0,49	0,51
%CV		6,1	6,3
Soro 3	N = 40		
Média		8,8	8,8
DP		0,54	0,54
%CV		6,2	6,2
Plasma 1	N = 40		
Média		34,5	34,5
DP		1,04	1,09
%CV		3,0	3,2

Tabela 6: Precisão (continuação)

Analito	Tamanho da amostra	Intra-ensaio	Total
Plasma 2	N = 40		
Média		105,5	105,5
DP		2,06	2,30
%CV		1,9	2,2
Controlo 1	N = 80		
Média		33,0	33,0
DP		1,21	2,12
%CV		3,7	6,4
Controlo 2	N = 80		
Média		108,0	108,0
DP		1,88	3,14
%CV		1,7	2,9
Cálcio (mg/dL)			
Controlo 1	N = 80		
Média		8,6	8,6
DP		0,21	0,25
%CV		2,4	2,9
Controlo 2	N = 80		
Média		11,8	11,8
DP		0,39	0,40
%CV		3,3	3,4
Creatinina (mg/dL)			
Controlo 1	N = 80		
Média		1,1	1,1
DP		0,14	0,14
%CV		12,5	13,1
Controlo 2	N = 80		
Média		5,2	5,2
DP		0,23	0,27
%CV		4,4	5,2
Gama-glutamiltransferase (U/L)			
Controlo 1	N = 80		
Média		25	25
DP		0,59	0,74
%CV		2,3	2,9
Controlo 2	N = 80		
Média		106	106
DP		1,52	2,29
%CV		1,4	2,2
Glicose (mg/dL)			
Controlo 1	N = 80		
Média		66	66
DP		0,76	1,03
%CV		1,1	1,6
Controlo 2	N = 80		
Média		278	278
DP		2,47	3,84
%CV		0,9	1,4
Proteína total (g/dL)			
Controlo 1	N = 80		
Média		6,8	6,8
DP		0,05	0,08
%CV		0,8	1,2

Tabela 6: Precisão (continuação)

Analito	Tamanho da amostra	Intra-ensaio	Total
Controlo 2	N = 80		
Média		4,7	4,7
DP		0,09	0,09
%CV		2,0	2,0
Azoto ureico no sangue (mg/dL)			
Controlo 1	N = 80		
Média		19	19
DP		0,35	0,40
%CV		1,9	2,1
Controlo 2	N = 80		
Média		65	65
DP		1,06	1,18
%CV		1,6	1,8
Ácido úrico (mg/dL)			
Controlo 1	N = 80		
Média		3,8	3,8
DP		0,15	0,18
%CV		4,0	4,8
Controlo 2	N = 80		
Média		7,5	7,5
DP		0,24	0,29
%CV		3,2	3,9

Correlação

Foram colhidas amostras de sangue total heparinizado com lítio e de soro de doentes em dois locais. As amostras de sangue total foram analisadas pelo Analisador Químico de Sangue Piccolo nos locais de colheita e as amostras de soro foram analisadas por métodos comparativos. Em dois casos, foram utilizados os resultados dos testes de amostras de soro pelo Analisador Piccolo, que foram apropriadamente indicados na tabela. Em alguns casos, foram utilizadas amostras com elevada e reduzida suplementação para cobrir o intervalo dinâmico. Para CRP, foram colhidas amostras de sangue de doentes num local. As amostras de plasma heparinizado com lítio foram testadas no Analisador Químico Piccolo xpress e por um método comparativo. As amostras foram seleccionadas de modo a cumprir os valores de distribuição da directriz CLSI EP9-A2.[86] As amostras foram processadas isoladamente pela Abaxis e por métodos comparativos no mesmo dia. A Tabela 7 apresenta estatísticas de correlação representativas.

Tabela 7: Correlação do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress (para CRP) com método(s) comparativo(s)

	Coeficiente de correlação	Declive	Intercepção	EPE	N	Intervalo da amostra	Método comparativo
Alanina Aminotransferase (U/L)	0,981	0,905	1,3	3,21	86	10–174	Paramax®
	0,985	0,946	-2,5	2,84	67	10–174	Technicon
Albumina (g/dL)	0,854	1,001	-0,3	0,22	261	1,1–5,3	Paramax
	0,896	0,877	-0,1	0,21	100	1,5–5,0	Beckman
Fosfatase alcalina (U/L)	0,988	0,970	-5,9	3,97	99	27–368	Paramax
	0,929	1,136	-17,6	4,79	80	26–150	Technicon
Amilase (U/L)	0,979	0,692	-4,7	3,11	99	11–92	Paramax
	0,963	1,065	-4,1	3,47	80	19–118	Technicon
Aspartato aminotransferase (U/L)	0,93	0,87	5,3	2,76	159	13–111	Paramax
	1,0	0,97	3,0	1,90	46	13–252	DAX™
Proteína c reactiva (mg/L)	0,998	0,990	-0,4	4,60	113	5,4–198,6	Beckman

Tabela 7: Correlação (continuação)

	Coeficiente de correlação	Declive	Intercepção	EPE	N	Intervalo da amostra	Método comparativo
Cálcio (mg/dL)	0,991*	0,990	-0,4	0,17	25	5,2–11,9	Paramax
	0,673	0,742	1,8	0,22	81	8,1–9,9	Beckman
Creatinina (mg/dL)	0,993	0,926	0,0	0,15	260	0,4–14,7	Paramax
	0,987	0,866	0,1	0,16	107	0,4–7,5	Beckman
Gama-glutamiltransferase (U/L)	1,0	0,98	-0,4	3,29	135	5–312	Paramax
	1,0**	1,60	3,1	18,57	49	27–1848	Beckman
Glicose (mg/dL)	0,987	1,009	-2,8	3,89	251	72–422	Paramax
	0,997	0,943	1,2	4,69	91	56–646	Beckman
Proteína total (g/dL)	0,849	0,932	0,6	0,19	251	5,7–9,2	Paramax
	0,873	0,935	0,3	0,16	92	6,5–9,2	Beckman
Azoto ureico no sangue (mg/dL)	0,964	0,923	0,5	1,08	251	6–52	Paramax
	0,983	0,946	0,0	0,66	92	6–38	Beckman
Ácido úrico (mg/dL)	0,979	0,958	-0,3	0,20	159	1,4–7,6	Paramax
	0,975	0,908	-0,6	0,31	44	2,1–12,1	DAX

* As amostras de soro de doentes hospitalizados forneceram um intervalo da amostra mais amplo e possivelmente mais útil do que as amostras de sangue total venoso de doentes em ambulatório. As estatísticas de correlação para o teste de cálcio Piccolo resultam destas amostras séricas.

** Um local processou apenas soro no Analisador Piccolo para a correlação de gama-glutamiltransferase.

Tabela 8: Correlação do tipo de amostra para CRP

Para o método de teste de CRP, a análise de regressão de Deming para o tipo de amostra forneceu os seguintes resultados para n = 21.

Eixo Y	Eixo X	R^2	Declive	Intercepção
Plasma heparinizado com lítio	Sangue total heparinizado com lítio	1,000	0,995	0,2
Soro	Sangue total heparinizado com lítio	0,999	1,005	0,5
Soro	Plasma heparinizado com lítio	0,999	1,010	0,3

Não se observaram diferenças significativas entre os resultados de sangue total heparinizado com lítio, plasma heparinizado com lítio e soro para CRP.

13. Bibliografia

1. Tonhazy NE, White NG, Umbreit WW. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. Arch Biochem 1950; 28: 36-42.
2. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am J Clin Pathol 1957; 28: 56-63.
3. Murray RL. Alanine aminotransferase. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company 1989: 895-898.
4. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 91: 569-571.
5. Bergmeyer HU, Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1980; 18: 521-534.
6. Howe PE. The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. J Biol Chem 1921; 49: 93-107.

13. Bibliografia (continuação)

7. Howe PE. The determination of proteins in blood — a micro method. J Biol Chem 1921; 49: 109-113.
8. Wolfson WQ, et al. A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumin, total globulin, alpha globulin, beta globulin and gamma globulin in 10 ml of serum. Am J Clin Pathol 1948; 18: 723-730.
9. Saifer A, Gerstenfeld S, Vacsler F. Photometric microdetermination of total serum globulins by means of a tryptophan reaction. Clin Chem 1961; 7: 626-636.
10. Saifer A, Marven T. The photometric microdetermination of serum total globulins with a tryptophan reaction: a modified procedure. Clin Chem 1966; 12: 414-417.
11. Gendler SM, Albumin. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1029-1033.
12. Webster D, Bignell AHC, Attwood EC. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 1974; 53: 101-108.
13. Louderback A, Mealey EH, Taylor NA. A new dye-binding technic using bromcresol purple for determination of albumin in serum. Clin Chem 1968; 14: 793-794. (Abstract)
14. Pinnell AE, Northam BE. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromcresol purple. Clin Chem 1978; 24: 80-86.
15. King EJ, Armstrong AR. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. Can Med Assoc J 1934; 31: 376-381.
16. Kind PRN, King EJ. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. J Clin Pathol 1954; 7: 322-326.
17. Ohmori Y. Uber die Phosphomonoesterase. Enzymologia 1937; 4: 217-231.
18. Fujita H. Uber die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. J Biochem, Japan 1939; 30: 69-87.
19. Petitclerc C, et al. Mechanism of action of Mg^{2+} and Zn^{2+} on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn^{2+} and Mg^{2+} alkaline phosphatase. Can J Biochem 1975; 53: 1089-1100.
20. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983; 29: 751-761.
21. Bowers GN Jr, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chim Acta 1979; 98: 163F-174F.
22. McNeely MDD. Amylase. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 906-909.
23. Zinterhofer L, et al. Nephelometric determination of pancreatic enzymes. I. Amylase. Clin Chim Acta. 1973; 43: 5-12.
24. Centers for Disease Control (CDC). Alpha-amylase methodology survey I. Atlanta: US Public Health Service; Nov, 1975.
25. Somogyi M. Modifications of two methods for the assay of amylase. Clin Chem 1960; 6: 23-35.
26. Gillard BK, Markman HC, Feig SA. Direct spectro-photometric determination of α-amylase activity in saliva, with p-nitrophenyl α-maltoside as substrate. Clin Chem 1977; 23: 2279-2282.
27. Wallenfels K, et al. The enzymic synthesis, by transglucosylation of a homologous series of glycosidically substituted malto-oligosaccharides, and their use as amylase substrates. Carbohydrate Res 1978; 61: 359-368.
28. Karmen A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. J Clin Invest 1955; 34: 131-133.
29. Bergmeyer HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1977; 23: 887-899.
30. Bergmeyer HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1978; 24: 720-721.
31. Macy E, Hayes T, Tracy R. Variability in the measurement of c-reactive protein in healthy subjects: implications for reference interval and epidemiological applications. Clin Chem 1997; 43: 52-58.
32. Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. Clin Chem 1999; 45: 2136-2141.
33. Roberts WL, Moulton L, Law TC, Farrow G, Cooper-Anderson M, Savory J, Rifai N. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. Clin Chem 2001; 47: 418–425.
34. Kramer B, et al. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. J Biol Chem 1921; 47: 475-481.
35. Clark EP, et al. A study of the Tisdall method for the determination of blood serum calcium with suggested modification. J Biol Chem 1925; 63: 461-464.
36. Katzman E, et al. The determination of serum calcium by titration with ceric sulfate. J Biol Chem. 1937; 118: 539-544.
37. Cali JP, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. In: Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol 8. Cooper GR, ed. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1997: 3-8.

13. Bibliografia (continuação)

38. Kessler G, M Wolfman. An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. Clin Chem 1964; 10: 686-703.
39. Michaylova V, et al. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. Anal Chim Acta 1971; 53: 194-198.
40. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. Ann NY Acad Sci 1978; 307: 86-112.
41. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbetimmung im serum. Z Klin Chem Klin Biochem 1970; 8: 582-587.
42. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. J Clin Chem Clin Biochem 1980; 18: 385-394.
43. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. Clin Chem 1975; 21: 1422-1426.
44. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. Clin Chem 1982; 28: 114-117.
45. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. Clin Chem 1983; 29: 1494-1496.
46. Whelton A, et al. Nitrogen metabolites and renal function. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994; 1513-1575.
47. National Kidney Disease Education Program (NKDEP). Creatinine Standardization. http://www.nkdep.nih.gov/labprofessionals/creatinine_standardization.htm (Accessed September 2010).
48. National Kidney Disease Education Program (NKDEP) Creatinine Standardization Recommendations. IVD Manufacturers. http://www.nkdep.nih.gov/labprofessionals/IVD_Manufacturers.htm (Accessed September 2010).
49. National Kidney Foundation. GFR Calculator. http://www.kidney.org/professionals/kls/gfr_calculator.cfm (Accessed September 2010).
50. Ball, EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ-glutamyl transpeptidase activity. J Biol Chem 1956; 221: 895-908.
51. Goldbarg JA, et al. The colorimetric determination of γ-glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. Arch Biochem Biophys 1960; 91: 61-70.
52. Orlowski M, Meister A. γ-Glutamyl-*p*-nitroanilide: a new convenient substrate for determination and study of L- and D-γ-glutamyltranspeptidase activities. Biochim Biophys Acta 1963; 73: 679-681
53. Persijn JP, van der Slik W. A new method for the determination of γ-glutamyltransferase in serum. J Clin Chem Clin Biochem 1976; 14: 421-427.
54. Shaw LM, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4. IFCC method for γ-glutamyltransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1983; 21: 633-646.
55. Folin O, et al. A system of blood analysis. J Biol Chem 1919; 38: 81-110.
56. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem 1937; 117: 771-776.
57. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. J Biol 1944; 153: 375-380.
58. Kaplan LA. Glucose. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989; 850-856.
59. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1057-1060.
60. Reigler E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. Z Anal Chem 1914; 53: 242-245.
61. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Am J Clin Path 1946; 16: 40-49.
62. Doumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. Clin Chem 1981; 27: 1642-1650.
63. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. In: Selected Methods of Clinical Chemistry, vol 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982; 365-373.
64. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. J Biol Chem 1914; 19: 211-228.
65. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. J Clin Pathol 1960; 13: 156-159.
66. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. Clin Chem 1962; 8: 130-132.
67. Talke H, et al. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut and serum im optischen test nach Warburg. Klin Wochensch 1965; 43: 174-175.
68. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. Clin Chim Acta 1971; 35: 33-37.
69. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. Anal Chem 1977; 49: 464-469.

13. Bibliografia (continuação)

70. Sampson EJ, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. Clin Chem 1980; 26: 816-826.
71. Folin O, Denis W. A new (colorimetric) method for the determination of uric acid in blood. J Biol Chem 1912-1913; 13: 469-475.
72. Brown H. The determination of uric acid in human blood. J Biol Chem 1945; 158: 601-608.
73. Feichtmeir TV, Wrenn HT. Direct determination of uric acid using uricase. Am J Clin Pathol 1955; 25: 833-839.
74. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxy-benzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. Clin Chem 1980; 26: 227-231.
75. Clinical and Laboratory Standards Institute. Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. CLSI Document POL1-T2. Wayne, PA: CLSI, 1992.
76. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. CLSI Document H18-A2. Wayne, PA: CLSI, 1999.
77. Overfield CV, et al. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. Clin Chim Acta 1972; 39: 35-40.
78. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem 1988; 34-2111-4.
79. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. CLSI Document EP7-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
80. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. CLSI Publication EP7-P. Wayne, PA: CLSI, 1986.
81. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
82. Clinical and Laboratory Standards Institute. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory, approved guidelines, 2nd ed. CLSI Document C28-A3. Wayne, PA: CLSI, 2008.
83. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; tentative guideline – second edition. CLSI Document EP5-T2. Wayne, PA: CLSI, 1992.
84. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. CLSI Document EP5-A. Wayne, PA: CLSI, 1999.
85. Clinical and Laboratory Standards Institute. Quality management for unit-use testing; proposed guideline. CLSI Document EP18-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
86. Clinical and Laboratory Standards Institute. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. CLSI Document EP9-A2. Wayne, PA: CLSI, 2002.